

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1959

THÈSE

POUR LE

475^{no}

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ÉTAT

PAR

CADILLON Jacques

né le 7 Juillet 1927 à SAIGON (Viet-Nam)

Présentée et soutenue publiquement le :

HETEROGENEITE ELECTROPHORETIQUE DES ENZYMES SERIQUES

Président: M. G. SCHAPIRA, Professeur

ÉDITIONS A. G. E. M. P. — 8, RUE DANTE - PARIS-V^e

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Nom du candidat : CADILLON

Prénom : Jacques

Date de soutenance :

N° d'ordre :



1

CADILLON Jacques
Hétérogenéité électropho-
rétique des enzymes séri-
ques.
Paris Dact. In 4° 56 p.
Thèse Médicale Paris 1959
N°
Ed. A.G.E.M.P. 1959

2

CADILLON Jacques
Hétérogenéité électropho-
rétique des enzymes séri-
ques.
Paris Dact. In 4° 56 p.
Thèse Méd. PARIS 1959
N°
Ed. A.G.E.M.P. 1959

3

CADILLON Jacques
Hétérogenéité électropho-
rétique des enzymes séri-
ques.
Paris Dact. In 4° 56 p.
Thèse Méd. PARIS 1959
N°
Ed. A.G.E.M.P. 1959

4

CADILLON Jacques
Hétérogenéité électropho-
rétique des enzymes séri-
ques.
Paris Dact. In 4° 56 p.
Thèse Méd. Paris 1959
N°
Ed. A.G.E.M.P. 1959

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550417_0042

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1959

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ÉTAT

PAR

CADILLON Jacques

né le 7 Juillet 1927 à SAIGON (Viet-Nam)

Présentée et soutenue publiquement le :

HETEROGENEITE ELECTROPHORETIQUE DES ENZYMES SERIQUES

Président: M. G. SCHAPIRA, Professeur

ÉDITIONS A. G. E. M. P. — 8, RUE DANTE - PARIS-V

THÈSE

Année 1907
N° 107

DOCTORAT EN MÉDECINE

CHIMIE MÉDICALE

CADRETON Jacques

Président de la Faculté

Le 10 juillet 1907 à Paris

Présenté et soutenu publiquement le 10 juillet 1907

UNIVERSITÉ DE PARIS

Président M. O. BONAPARTE, Professeur

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

PROFESSEURS

15-1-59

MM. Aubin (A.), Bénard (H.), Brocq (P.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Chabrol (E.), Champy (C.), Chevallier (P.), Debré (R.), Donzelot (E.), Gastinel (P.), Guillaïn (G.), Halphen (E.), Harvier (P.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Lantuejoul (P.), Laroche (G.), Laubry (C.), Lévy-Solal (E.), Lhermitte (J.), Lian (C.), Loeper (M.), Marion (G.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Mondor (H.), Monod (R.), Moreau (R.), Mulon (P.), Olivier (E.), Richet (C.), Strohl (A.), Tanon (L.), Velter (E.).

DOYEN Léon BINET.

Membre de l'Institut

ASSESEUR Jean VERNE.

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	CORDIER (G.)
Anatomie (Chaire à titre personnel)	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Bactériologie	FASQUELLE (R.)
Biochimie médicale	JAYLE (M. F.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Clinique carcinologique (Inst. G. Roussy)	REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)	MOUQUIN (M.)
	Beaujon SICARD (A.)
	Cochin QUÉNU (J.)
Cliniques chirurgicales	Hôtel-Dieu MÉNÉGAUX (G.)
	Saint-Antoine GOSSET (J.)
	Salpêtrière MOULONGUET (P.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)	FÈVRE (M.)
Clinique chirurgicale orthopédique et réparatrice (Cochin)	MERLE D'AUBIGNÉ (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	GAUDART-D'ALLAINES (F. de)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laënnec)	MATHEY (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J.)
Clinique génétique médicale (Enfants-Malades)	LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)	FUNCK-BRENTANO (P.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (St-Louis)	DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)	CATHALA (J.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Ste-Anne)	DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)	HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	MARCHAL (G.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	ALAJOUANINE (T.)
	Broussais GENNES (L. de)
	Cochin JUSTIN-BESANÇON (L.)
Cliniques médicales	Hôtel-Dieu BARIÉTY (M.)
	Lariboisière SOULIÉ (P.)
	Pitié DREYFUS (G.)
	St-Antoine KOURILSKY (R.)
Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat)	DEBRAY (C.)
Clinique médicale propédeutique	PASTEUR VALLERY-RADOT (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hotel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	PETIT-DUTAILLIS (D.)
Cliniques obstétricales	Baudelocque LACOMME (M.)
	Port-Royal N . . .
	Tarnier VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	RENARD (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie Sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique de pneumo-phthisiologie (Laënnec)	BERNARD (E.)
Clinique psychiatrique infantile (Salpêtrière)	MICHAUX (L.)
Clinique de puériculture (St-Vincent-de-Paul)	LELONG (M.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Pitié)	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	SÈNÈQUE (J.)
Clinique thérapeutique médicale (St-Antoine)	LEMAIRE (A.)
Clinique urologique (Cochin)	FEY (B.)
Electrophysiologie médicale (chaire à titre personnel)	DJOURNO (A.)
Embryologie	GIROUD (A.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	N . . .
Histologie	VERNE (J.)
Hygiène des collectivités (chaire à titre personnel)	DEPARIS (M.)

Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	MM. TURPIN (R.)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (P.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	PIÉDELIEVRE (R.)
Parasitologie	GALLIARD (H.)
Pathologie chirurgicale	COUVELAIRE (R.)
Pathologie exotique	LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée	LENÈGRE (J.)
Pathologie humorale et immunologie expérimentale (chaire à titre personnel)	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	N...
Pathologie et thérapeutique générales	GARGIN (R.)
Pharmacologie et matière médicale	CHEYMOL (J.)
Physiologie	BINET (L.)
Physiologie (chaire à titre personnel)	BARGETON (D.)
Physique médicale	DOGNON (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale	PATEL (J.)
Thérapeutique	BROUET (G.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGRÉGÉS ET MAÎTRES DE CONFÉRENCES - AGRÉGÉS

MM.		MM.	
Anatomie	{ CABROL (G.) COUINAUD (G.) OLIVIER (G.)	Orthopédie	{ JUDET (R.) RAMADIER (J.)
Anatomie pathologique	{ GAUTHIER-VILLARS (Mlle P.) pr. s. ch. BUSSER (F.) GOUYGOU (Ch.) ORCEL (L.) PAILLAS (J.)	Oto-rhino-Laryngologie	DEBAIN (J.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)	Parasitologie	{ BRUMPT (L.C.), pr. s. ch. CHABAUD (A.)
Bactériologie	{ NÉVOT (A.) pr. s. ch. BARBIER (P.) CHRISTOL (D.) TOURNIER (P.)		{ BARCAT (J.) BINET (J.-P.) CAUCHOIX (J.) CHATELIN (C.-L.) DUBOST (Ch.) DUBOST (Cl.) FAUREL (J.)
Biochimie médicale	{ DESGREZ (P.), pr. s. ch. POLONOSKI (J.), m. conf. SCHAPIRA (G.), m. conf.	Pathologie chirurgicale	{ FLABEAU (F.) GERMAIN (A.) LAURENCE (G.) agr. per. LORTAT-JACOB (J.-L.) LOYGUE (J.) MERCADIER PERROTIN (J.) ROBERT (H.) THOMERET (G.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.), m. conf.		
Carcinologie	{ DENOIX (P.) MATHE (G.)	Pathologie exotique	SCHNEIDER (J.)
Dermato-Syphiligraphie	DUPERRAT (B.)		{ CROSNIER (J.) HARTMANN (L.) LÉPER (J.) MAURICE (J.) PLAS (F.) RICHEL (G.)
Electro-Radiologie	LEDoux-LEBARD (G.)	Pathologie expérimentale	
Embryologie	TUEHMANN-DUPLESSIS (H.)		
Hématologie	{ BILSKI-PASQUIER (G.) DAUSSET (J.)		
Histologie	{ COUJARD (R.) pr. s. ch. MAROIS (M.) RACADOT (J.)		
Hydrologie	CORNET (A.)		
Hygiène	{ BOYER (J.), pr. s. ch. CORRE-HURST (Mme L.)		
Maladies infectieuses	{ BASTIN (R.) DUPONT (V.)		
Médecine légale	{ DEROBERT (L.), pr. s. ch. HADENGUE (A.) FOURNIER (E.) GUENIOT (M.)		
Médecine du travail	ALBAHARY (C.)		
Neuro-chirurgie	DAVID (M.)		
Neurologie	LHERMITTE (F.)	Pathologie médicale	{ AUSSANNAIRE (M.) BOUR (H.) BOUVIER (J.) BOUVRAIN (Y.) BRIGAIRE (H.) BRISAUD (H.) BROCARD (H.) BUGE (A.) CASTAIGNE (P.), m. conf. CATINAT (J.) CONTAMIN (F.) COURY (G.) FREZAL (J.) HOUSSET (E.) LAROCHÉ (Ol.) LESOBRE (R.) MACREZ (G.) NICK (J.) PEQUIGNOT (H.) m. conf. ROYER (P.) WOLFROMM (R.)
Obstétrique	{ GRANJON (A.) HERVET (E.) LE LORIER (G.) MORIN (P.) MUSSET (R.) ROBEY (M.) THOYER-ROZAT (J.)		
Ophthalmologie	{ BRÉGEAT (P.) SARAUX (H.)		

	MM.		MM.
	JOSEPH (R.)	Pneumo phthisiologie . . .	KREIS (B.)
	MANDE (R.)	Psychiatrie	PICHOT (P.)
Pédiatrie-Puériculture . . .	MOZZICONACCI (P.)	Psychiatrie infantile . . .	DUCHÉ (D.)
	POLONOVSKI (C.)	Rhumatologie	DELBARRE (F.)
	ROSSIER (A.)		CERNÉA (P.)
	LEVY (Mlle J), pr. s. ch.	Stomatologie	CHAPUT (M ^{me} A.), m. c. agr.
Pharmacologie	BOISSIER (J.)		GRELLET (M.)
	LECHAT (P.)		CHASSAGNE (P.)
Physiologie	PARROT (J.), pr. s. ch.	Thérapeutique	LAMOTTE (M.)
	DEJOURS (P.)		QUENU (L.)
Physique médicale	GOUGEROT (L.), m. conf.	Urologie	

III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent.

	MM.		MM.
	ABOULKER (P.)	Clinique neuro-rhumatologique SÈZE (S. de)	
	AMELINE (A.)		GRASSET (J.)
	HUGUIER (J.)		LEPAGE (F.)
Clinique chirurgicale	LÉGER (L.)	Clinique obstétricale . . .	MAYER (M.)
	OLIVIER (G.)		MERGER (R.)
	PADOVANI (P.)		RAVINA (J.)
	POILLEUX (F.)		DESIGNES (P.)
	ROUX (M.)	Clinique ophtalmologique .	OFFRET (G.)
	VERNE (J.-M.)		
	HAGDENEAU (J.), pr. s. ch.	Clinique oto-rhino-laryngo-	
	BOUDIN (G.)	logique	MADURO (R.)
	CONTE (M.)		
Clinique médicale	DOMART (A.)	Clinique pédiatrique et pué-	
	MILLIEZ (P.)	riculture	LAPLANE (R.)
	PERRAULT (M.)		
	RAMBERT (P.)	Clinique psychiatrique . .	BARUK (H.)
	THIEFFRY (S.)		
	TURIAF (J.)	Clinique urologique . . .	KUSS (R.)

IV. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch.
Biochimie médicale	ETTORI (J.) Pr. à t. pers.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

Secrétaire général de la Faculté . . M. LENA (J.)

Secrétaires M^{me} BEURLAND (H.), M^{lle} CHAINTREUIL (G.), M^{lle} HURÉ (A.)

Conservateur, chargé de la direction de la Bibliothèque M. le Docteur HAHN (A.)

Conservateurs M^{lles} DUMAITRE (P.), GOICHON (A.-M.)

Bibliothécaires { M^{me} CONTET (J.), M^{lles} LAURENT (H.),
LE NOIR (G.), QUIÉVREUX (E.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A Monsieur le Professeur SCHAPIRA,
Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

qui m'a fait l'honneur d'accepter
la présidence de ma thèse,

qu'il reçoive ici le témoignage
de ma reconnaissance pour l'aide
précieuse qu'il a apporté à la
rédaction de cette thèse.

HETEROGENEITE ELECTROPHORETIQUE

des ENZYMES SERIQUES

==::==::==::==::==::==::==::==::==

ELECTROPHORESE DES ENZYMES SERIQUES

==:==:==:==:==:==:==:==:==:==

L'intérêt porté à l'étude des enzymes sériques est déjà ancien, et va croissant d'année en année. En effet, leur origine étant tissulaire, on peut espérer étudier par leur dosage des phénomènes pathologiques au niveau des tissus.

On connaît déjà entre autre, l'intérêt puissant du dosage des phosphatases acides, dans le diagnostic du cancer de la prostate; de celui de l'amylase dans le diagnostic des pancréatites hémorragiques et de ceux des ~~transaminases~~ glutamiques oxalacétiques dans les infarctus.

Le premier enzyme décelé dans le sérum l'a été dès 1846 : c'était une amylase. Mais les applications cliniques des dosages enzymatiques ont été beaucoup plus tardives et n'ont commencé qu'en 1929, avec les dosages de la phosphatase alcaline du sérum.

Depuis un grand nombre d'enzymes ont été trouvés dans le sérum.

Dans le domaine du métabolisme glucidique, outre l'amylase on a surtout étudié l'aldolase et la lactico

déhydrogénase, on a isolé également une phosphohexose iosomérase et une alpha glycérophosphatase.

Dans le domaine du métabolisme protéique on a étudié surtout la transaminase glutamique oxalécétique et la transaminase glutamique pyruvique. On connaît également une dipeptidase une tripeptidase, une déhydropeptidase.

Dans le domaine du métabolisme lipidique on connaît une lipase, une lipoprotéine lipase, une estérase, mais on a surtout étudié, les phosphatases alcalines et acides et le pseudo choline estérase sérique.

La thèse présente consiste en une revue des différents enzymes sériques connus dont la position dans le diagramme électrophorétique du sérum a pu être précisée.

Dans tous les travaux on a eu recours à l'électrophorèse de zone sur support, mais les techniques appliquées sont différentes selon les auteurs. Les travaux les plus anciens ont été faits avec électrophorèse sur papier; des travaux plus récents par électrophorèse sur plaque d'amidon. D'autres auteurs dont Grabar et son école emploient l'électrophèse sur gélose et l'associent même parfois à une précipitation immunologique : c'est la technique de l'immuno électrophorèse.

Quelles que soient les méthodes employées, le principe de l'électrophorèse sur support reste le même et peut être résumé comme suit :

Si l'on établit une différence de potentiel entre les extrémités d'un support (bande de papier, plaque d'amidon, gels d'alumine, d'agar, de silice etc ...) rendu conducteur par une solution convenable d'électrolyte, on aura en chaque point du support un champ électrique (mesuré en volts par centimètre). Si une goutte de solution contenant les particules à analyser est déposée sur le support les constituants ioniques se déplacent sous l'action du champ électrique avec leur vitesse propre. En effet, une particule de charge q (dans un tampon donné) placée dans un champ électrique de H volts/cm sera soumise à une force $f = Hq$ et elle atteindra presque instantanément sa vitesse limite donnée par la loi de Stokes pour une particule supposée sphérique

$$f = Hq = 6\pi\eta rV \quad \text{d'où on tire } V = \frac{Hq}{6\pi\eta r}$$

où η est le coefficient de viscosité, r le rayon de la particule supposée sphérique et v la vitesse.

La vitesse sera donc inversement proportionnelle au rayon et directement proportionnelle à la charge de la particule.

La valeur de cette charge dépend étroitement du pH de la solution.

En effet, en milieu de pH égal au point isoélectrique d'une protéine, cette protéine sera électriquement neutre et sa mobilité sera nulle.

Il est donc nécessaire de se placer dans un milieu de pH éloigné du point isoélectrique, d'où l'emploi très répandu de milieux tampons à pH élevés, de l'ordre de 8,5 (tampons véronal) fort éloigné des points isoélectrique des globulines ($pH_i = 7,5$) et des albumines ($pH_i = 4,6$). Dans ces conditions les fonctions acides seront pratiquement les seules ionisées, conférant aux macromolécules des charges négatives. Les macromolécules se déplaceront donc toutes vers l'anode.

Autre condition le champ c'est à dire la différence de potentiel par unité de longueur doit être homogène. Or le potentiel est lié à la résistance du milieu par la relation $V = RI$. Si donc la résistance de la solution d'électrolyte est faible la variation de potentiel peut être faible au niveau du support et être pratiquement localisée au voisinage des électrodes, et la force d'entraînement dans le support très réduite. De même si la goutte à analyser est trop concentrée, elle provoquera à l'endroit où se fait l'addition un effondrement

du champ entraînant un ralentissement voire une immobilisation des ions. D'où l'emploi de solutions diluées d'électrolytes et l'obligation de dialyser les sérums contre la solution d'électrolyte.

Le support le plus employé jusqu'à présent a été le papier et c'est avec lui que les conditions expérimentales à respecter ont été les mieux définies. C'est avec le papier qu'il a été mis en évidence le rôle fondamental joué par l'évaporation dans la variation de la vitesse de migration des macromolécules.

En effet, dans tout support, il se produit un dégagement de chaleur par effet Joule. Si comme dans la majorité des cas le support n'est pas isolé, de l'air, il se produira une évaporation à la face supérieure. La quantité d'eau évaporée sera remplacée par un volume équivalent arrivant par capillarité des deux extrémités du support. La vitesse du flux liquide est la somme de deux vitesses égales et de sens contraire décroissant au fur et à mesure qu'on s'éloigne de l'extrémité du support selon la même loi exponentielle. La vitesse résultante est donc maximum à une extrémité, décroît et s'annule au milieu du support pour croître de nouveau, mais en sens contraire, et atteindre la même valeur maximum à l'autre extrémité du support.

La vitesse de la particule sera dans ce cas la résultante de la vitesse constante due au champ électrique et de la vitesse variable du flux liquide. La particule migrera d'abord rapidement puis ralentira et sa vitesse s'annulera une fois dépassé le milieu du support en un point où la vitesse du flux liquide est égale à celle due au champ électrique, mais de sens contraire.

Ce phénomène d'arrêt de particule en un point donné quelle que soit la durée de l'électrophorèse trouve son application dans le dispositif à évaporation contrôlée de Macheboeuf.

Outre sa simplicité ce dispositif permet de comparer directement sur la même feuille des solutions protéiques de concentrations différentes telles que le sérum et le liquide céphalorachidien à condition de déposer la solution la moins concentrée sous forme d'une trainée représentant un volume suffisant.

Dans d'autres dispositifs au contraire, l'évaporation est supprimée en plaçant le papier imbibé de tampon entre deux plaques de verre. Dans ces conditions, le déplacement des particules est une fonction linéaire du temps.

Un autre procédé possible avec le papier est la réparation en continu, où sur une feuille placée verticalement ou combine deux effets différents : L'entraînement vertical par un courant de solvant du haut en bas et le déplacement latéral des différents ions soumis à l'influence d'un champ électrique horizontal. Chaque espèce ionique particulière arrivera au bas du support en un point différent où il suffira de la recueillir.

Le papier, présente donc de nombreux avantages, simplicité, netteté, de réparation qui rendent son emploi incomparable au point de vue réparation qualitative.

Par contre, dès que l'on désire étudier la séparation au point de vue quantitatif, ce qui est souvent le cas en matière de réparation d'enzymes où l'on doit fréquemment éluer et mesurer les activités enzymatiques de chaque fraction le papier présente de gros inconvénients qui tiennent à son fort pouvoir absorbant. En effet, après électrophorèse sur papier on ne récupère par élution qu'une faible fraction de l'activité totale. On peut craindre dans ces conditions de ne pas mettre en évidence des proportions notables d'enzyme sur certaines fractions et d'en donner également une répartition erronée.

Aussi s'est répandu l'emploi de support à très faible pouvoir absorbant comme la cellulose ou l'amidon, sous forme de plaques de gel de l'un de ces supports.

Le support est répandu en poudre dans un bac rectangulaire pour former une plaque dont les dimensions sont en général de 40 Cm de long pour 20 Cm de large et 1 Cm d'épaisseur.

On emploie des dispositifs éliminant l'évaporation en recouvrant la plaque de support soit d'une plaque de verre, soit d'une feuille de cellophane siliconée.

Avec ce dispositif on peut éluer les diverses fractions aisément en découpant des bandes d'amidon.

La récupération des protéines est de l'ordre de 30% et dans des proportions conservées dans ces 30 % l'activité enzymatique compte tenu de la perte protéique est de l'ordre de 50 %. Il y a donc lieu d'admettre que ce procédé donne une répartition quantitative correcte des enzymes.

D'autres auteurs emploient le gel d'amidon en colonne verticale dans un cylindre de verre d'environ 40 Cm de long sur 6 de diamètre. Après électrophorèse les diverses fractions sont éluées comme pour une chromatographie dans un collecteur de fraction.

Un autre support consiste en un milieu au gel de gélose. Ce support présente plusieurs avantages : facilité de la préparation, par rapport à la plaque d'amidon, grande tenue en eau, transparence, faible rétention. L'évaporation n'entraîne pas de flux de compensation mais simplement un tassement du support avec par contre une concentration saline du milieu qui augmente la conductivité et peut entraîner un ralentissement de la migration.

Ce procédé a été combiné par l'école de Grabar avec les méthodes immunologiques de précipitation par diffusion.

Après électrophorèse, sur gélose on laisse diffuser un immun sérum antisérum humain, placé dans une gouttière parallèle à l'axe de migration électrophorétique. Chaque tache électrophorétique diffuse radialement et va rencontrer son anticorps homologue qui diffuse latéralement à partir de sa gouttière : il se formera une série d'arcs caractéristiques de chaque antigène.

Ce procédé a l'avantage de donner une double analyse et est donc d'une grande finesse. Par contre, il présente l'inconvénient de nécessiter des antisérums qui ne peuvent pas être d'activité constante.

D'autre part, on peut sortir des zones d'équivalence pour un excès relatif d'antigène ou d'anticorps et ne pas avoir de précipité.

Cette technique a été utilisée par Uriel pour l'étude de l'activité enzymatique de la ceruléoplasmine.

On retrouve l'emploi d'un gel translucide d'agar dans la micro électrophorèse décrite par Wieme.

Ici on prépare des micro supports à électrophorèse en déposant sur la surface bien horizontale d'un gel d'agar coulé dans une boîte de Pétri, des lamelles porte objet. On verse dessus une nouvelle quantité de gel d'agar de façon à les recouvrir d'une couche de 1,5 à 2mm d'épaisseur. Après refroidissement on découpe et détache les lamelles portant à leur face supérieure la couche de gel qui sera le support dans lequel sera effectué l'électrophorèse. On dépose avec une micropipette les liquides à analyser dans une fente minime tracée avec une lame de rasoir. Il suffit d'un volume de 1 à 3 micro litre.

On a pu même employer des volumes de 1/10 à 1/150 microlitre en déposant directement la gouttelette sur l'agar.

L'électrophorèse doit être effectuée très vite et en un temps bref, en raison des phénomènes de diffusion importants à cette échelle, et qui contraindraient la séparation. Avec un gradient de potentiel de 6 à 10 volts/Cm, l'opération ne dure que 10 à 20 minutes.

L'intérêt de ce procédé pour les études enzymatiques vient de ce qu'on a pu y associer une technique de mise en évidence de la position d'un enzyme par diffusion d'un substrat et du coenzyme. C'est la technique de l'enzymoélectrophorèse décrite également par Wieme qui a été appliquée à l'étude de la Lactico Dehydrogénase sérique.

A la fin de l'électrophorèse on applique sur la lamelle une fine couche de gélose contenant le substrat ici le pyruvate et le coenzyme DPNH. Tous deux diffusent et à l'endroit où se trouve l'enzyme le pyruvate est réduit en lactate et le DPNH oxydé en DPN qu'on peut localiser directement en raison de la transparence de la préparation par spectrophotomètre. Un pareil procédé n'est possible qu'avec une micro méthode pour deux raisons: Les phénomènes de diffusion ne sont importants qu'à petite échelle : ici tout le DPNH a diffusé et est oxydé en 2 minutes; à une échelle beaucoup plus grande

la diffusion serait plus lente et la proportion de D P N serait trop faible pour être discernable, par ailleurs ce procédé permet de n'employer que des quantités minimales de DPNE qui reste un produit fort coûteux.

Une fois l'électrophorèse effectuée il faut avant mise en évidence de l'activité enzymatique repérer les différentes fractions sériques sur le support. Dans le cas du papier on doit découper une bande et la colorer. Pareil pour la gélose, on doit fendre longitudinalement le support et en colorer une partie. Pour l'amidon c'est beaucoup plus simple : on fait avec une feuille de papier une empreinte de la surface de la plaque, empreinte que l'on colore - on ne perd ainsi rien du sérum analysé.

Pour l'électrophorèse sur colonne d'amidon, on ne repère les différentes fractions protéiques qu'après élution dans un collecteur de fractions et par spectrophotométrie.

Les colorants classiques utilisés sont le Bleu de Bromophénol en solution à 0,10 % dans l'alcool éthylique saturé de chlorure mercurique. (On y laisse la feuille acétique à 0,5 %). et le noir de Naphtalène (ou Amido. Schwartz) en solution saturée dans l'alcool

méthyllique à 10 % d'acide écétique (ON colore 10 minutes et on décolore en milieu méthanol acétique). On détermine la position des bandes par lecture au photomètre. On procède ensuite seulement, à la mise en évidence de la propriété. Il est fort intéressant de comparer les résultats de deux méthodes d'électrophorèse. Electrophorèse sur papier et sur colonne d'amidon par exemple travail qu'on fait Lowry Rosebrough & Farr. Ils ont d'abord opéré par électrophorèse d'un sérum sur colonne après élution et repérage des diverses fractions, ils ont mélangé avec du sérum normal les fractions alpha 1, alpha 2, béta, gamma et procédé à des électrophorèses sur papier et ils ont observé pour le sérum additionné d'alpha 1 un important renforcement de la coloration au niveau de la bande alpha 1 du sérum normal de même pour alpha 2 et béta, moins net pour gamma dont la répartition est de toute façon plus étalée.

HAPTOGLOBINE ET CERULEOPLASMINE

Avant d'étudier la répartition électrophorétique d'enzymes dont on connaissait l'activité enzymatique longtemps avant d'en avoir étudié la migration électrophorétique, il convient de mentionner les protéines connues surtout par leurs caractères électrophorétiques et dont les propriétés enzymatiques quoique servant à les

identifier ne sont pas fondamentales dans le rôle qu'elles jouent.

Citons l'Haptoglobine qui n'est pas un enzyme à proprement parler, mais qui en se combinant, avec deux molécules d'hémoglobine augmente considérablement les propriétés peroxydantiques de celle-ci dans la zone de pH 4, 3 alors que l'hémoglobine seule n'a qu'une activité peroxydantique très faible dans cette zone de Ph.

Citons aussi la céruléoplasmine dont les propriétés enzymatiques ont été découvertes par Holmberg et Laurell. Cette protéine qui joue le rôle de transporteur de cuivre et qui migre avec les globulines alpha 2 présente une activité oxydantique qu'on peut mettre en évidence sur une solution de paraphénylène diamine soit comme cela fut effectué à l'origine en mesurant la consommation d'oxygène à l'appareil de Warburg soit beaucoup plus simplement en mettant en évidence le composé quinonique fortement coloré en brun de l'oxydation du paraphénylène dianine.

Cette dernière technique a été employée par Uriel pour la mise en évidence de l'activité oxydantique de la céruléoplasmine.

Il procède à une électrophorèse sur gélose en milieu tampon acétate pH 5,7 force ionique 0,1.

Après l'électrophorèse, les plaques sont déposées dans une solution de paraphénylène.

Les endroits possédant une activité enzymatique se manifestent par des taches brunâtres.

Les plaques sont ensuite lavées dans deux bains successifs de deux heures de solution tampon acétate pH 4,7 force ionique 0,1 dans de l'alcool à 50 %, qui bloque l'activité enzymatique.

L'enregistrement quantitatif est fait par densitométrie directe des taches à l'enregistreur d'extinction Zeiss.

Uriel a complété cette étude électrophorétique par des immunoélectrophorèses. Les différentes zones sont référées par coloration à l'amido Schwartz, l'auteur fait ensuite deux colorations spécifiques. Celle du cuivre liée aux protéines, celle de l'activité oxydasi- que par la paraphénylène diamine.

Il trouve les résultats suivants, dans le cas de l'électrophorèse simple du sérum.

La coloration spécifique du cuivre lié aux protéines montre une coloration dans la zone albumine et globuline alpha 2, la coloration spécifique de l'activité oxydantique ne se manifeste que dans la zone alpha 2.

Dans le cas de l'immuno électrophorèse il observe 16 lignes de précipitation. Une ligne correspond à la zone alpha 2 et donne la coloration spécifique du cuivre, la même ligne donne une coloration spécifique de l'activité oxydantique.

LES TRANSAMINASES

A l'inverse, nous allons étudier maintenant la migration électrophorétique d'enzymes tissulaires retrouvés dans le sang. Ces enzymes sériques ont d'abord été étudiés d'un point de vue quantitatif et en rapport avec des phénomènes pathologiques. C'est ainsi que l'on a mis en évidence la grande importance de l'élévation du taux des transaminases glutamiques oxalacétique et des lactico déhydrogénases dans les cas d'infarctus du myocarde et que l'on utilise leur dosage pour des diagnostics précoces.

On a étudié les mobilités des deux transaminases les plus importantes : la transaminase glutamique oxalacétique sur papier et sur plaque d'amidon et la transaminase glutamique pyruvique sur papier.

Le premier enzyme catalyse la réaction d'équilibre.

Acide L glutamique + Acide Oxalacétique = Acide alpha-cetoglutanique + acide L aspartique.

le second catalyse la réaction.

Acide L glutamique + Acide pyruvique = Acide alpha-cétoglutarique + L. alanine.

Ces deux enzymes comme presque toutes les transaminases connues fonctionnent avec un coenzyme : le pyridoxal phosphate.

L'étude de la mobilité électrophorétique de la transaminase glutamique oxalacétique a été effectuée sur sérum normal et sur sérum de malades atteints de myopathie. En effet, dans cette affection, en période de poussée évolutive, on observe une importante élévation du taux de transaminase glutamique oxalacétique. Ces travaux ont été effectués par Rosa Saddi et Schapira. Ces auteurs emploient les méthodes techniques suivantes. Les sérums, non hémolysés, qui ont été conservés à moins 15°, sont dialysés contre du tampon véronal de pH 8,6 et de force ionique 0,1 pendant 48 heures.

L'électrophorèse s'effectue sur plaque d'amidon, plaque de 40 Cm sur 18 Cm, et de 1 Cm d'épaisseur.

0,5 ml de sérum est déposé, mélangé avec de la poudre d'amidon sec, sous forme de pâte pulvérulente dans une fente de 0,5 Cm de large couvrant la largeur de la plaque, fente placée à 12 Cm du bord libre cathodique de la plaque. La plaque est ensuite recouverte de cellophane sur laquelle a été pulvérisé du silicone, pour éviter l'évaporation.

L'électrophorèse dure 18 heures, avec une intensité de courant de 40 milli ampères et sous une tension de 500 volts. A la fin de la migration on repère les différentes fractions sériques au moyen d'une empreinte faite avec du papier Watman n° 1 coloré au bleu de bromophénol.

On découpe ensuite les blocs d'amidon correspondant aux diverses fractions sériques repérées. Chaque fraction est éluée avec 10 ml d'eau bidistillée et l'éluat concentré selon la technique de Sowers et Mac Clendon : un sac à dialyse contenant l'éluat est placé au contact de poudre de polyéthylène glycol qui adsorbe fortement l'eau.

L'opération dure douze heures à température 4°. Le volume de l'éluat concentré est alors ajusté à 0,5 ml avec de l'eau distillée. Le dosage enzymatique a été effectué par la méthode colorimétrique de Stanley Reitmann et Frankel. On part d'un mélange acide alpha céto glutanique et acide

aspartique qui en présence d'enzyme donne de l'acide glutamique et de l'acide oxalacétique. On forme ensuite les dinitro phényl hydrazones des acides cétoniques et l'on dose photométriquement sur 505 millimicrons la dinitro phényl hydrazone de l'acide oxalacétique. Les résultats seront exprimés en micromoles d'acide oxalacétique formé en un heure à 40°.

La récupération protéique est de l'ordre de 30 %, chiffre assez faible mais la proportion des différentes fractions n'apparaît pas modifiée.

Les résultats sont rapportés en deux tableaux. Le premier relatif aux sérums de sujets normaux, le second au sérum de sujets myopathes en période évolutive, sujet chez qui le taux de transaminase glutamique oxalacétique est trois à cinq fois plus élevé que chez les témoins.

TABLEAU I :	Sujets	Normaux	Témoins
	I	II	III
Activité totale	0,75	0,60	0,50
Pourcentage d'activité selon les fractions			
Albumine	0	0	0
Alpha 1 globuline	0	5	5
Alpha 2 globuline	100	90	90

Beta 1 globuline	0	5	5
Beta 2 globulines	0	0	0
Gamma	0	0	0

La transaminase glutamique oxalacétique se retrouve essentiellement dans la fraction Alpha 2.

TABLEAU II SUJETS MYOPATHES

	G...	M...	Le M...	D...	N...
Activité totale	2,5	3,7	2,5	3,5	2,8
Pourcentage					
Albumine	0	0	0	0	0
Alpha 1	0	7,5	0	15	15
Alpha 2	100	75	100	60	71
Beta 1	0	7,5	0	7	7
Beta 2	0	0	0	7	0
Gamma	0	7,5	0	7	7

La transaminase glutamique oxalacétique se retrouve ici aussi essentiellement dans la fraction alpha 2, avec cependant un étalement dans trois cas sur cinq.

Un autre travail a été effectué par des auteurs tchèques sur les transaminases glutamiques oxalacétique et aussi les transaminases glutamiques pyruviques, il s'agit là de sujet

présentant des ictères par rétention et des infarctus du myocarde en période aiguë.

Les électrophorèses ont été ici effectuées sur papier Whatman 1 de 35 cm sur 14 en tampon barbital de force ionique 0,1 et de pH 8,6 sous une tension de 350 volts. Le papier est découpé en bandes transversales correspondant à chaque fraction. Le dosage enzymatique s'effectue en dosant les phényl hydrazones d'acides alphacétoniques formés.

Pour la transaminase glutamique oxalacétique on incube comme dans le travail précédent l'acide aspartique avec l'acide alpha céto glutarique et l'on dose l'acide oxalacétique formé. Pour la transaminase pyruvique on incube l'acide alpha céto glutarique avec l'alanine et l'on dose l'acide pyruvique formé toujours par photométrie de sa phényl hydrazone.

Les moyennes des chiffres obtenus en pourcentage sont reportés dans ce tableau pour la transaminase glutamique oxalacétique.

	Albumine	Alpha 1	Alpha 2	Beta	Gamma
Ictères par rétention	7	2	82	7	2
Infarctus	1	5	75	12	7

On retrouve toujours le même fort pourcentage dans la fraction alpha 2.

Par contre, le tableau relatif à la transaminase pyruvique montre une répartition maxima dans la portion beta pour les ictères par rétention et les infarctus, malheureusement le manque de témoin enlève beaucoup de valeur à ces données.

	Albumine	Alpha 1	Alpha 2	Beta	Gamma
Ictère par rétention	2	1	8	81	7
Infarctus	8	8	23	43	8

LA LACTICO DEHYDROGENASE

La lactico déhydrogénase catalyse la réaction
Acide pyruvique = acide lactique qui joue un rôle si
important dans la dégradation anaérobie du glycogène dans
le muscle.

C'est un enzyme fonctionnant avec comme coenzyme le
diphosphopyridine nucléotide.

L'intérêt de son étude vient de ce que son taux est souvent augmenté dans les cas de leucose, et précocement et avec une grande fréquence dans les cas d'infarctus du myocarde.

Les fractionnements par électrophorèse des sérums ont été faits par les uns sur plaque d'amidon, par les autres sur papier en continu avec des résultats concordants.

Technique : L'électrophorèse sur plaque d'amidon a été effectuée en milieu tampon barbital à pH 8,6 force ionique : 0; après l'opération la plaque est découpée en fragments de 1 Cm,5 les protéines éluées et leur concentration déterminée photométriquement.

On dose dans chaque fraction d'éluat la Lactico Déhydrogène selon la technique décrite par Wroblewski et Ladue.

On utilise la réaction $\text{Pyruvate} + \text{DPNH (réduit)} = \text{Lactate} / \text{DPN (oxydé)}$.

On titre par photométrie l'absorption du DPN à 340 millimicrons. On emploie :

Tampon phosphate 2,4 millilitre.

Sérum 0,1 ml Solution DPNH (2,5 mg/ml) 0,1 ml

On ajoute le pyruvate de Sodium (0,1 ml de solution de 2,5 mg/ml) 20 minutes après seulement : en effet on

observe au fectro photomètre, dèsque l'on ajoute au sérum la solution de DPNH une oxydation partielle de celui-ci.

Cette oxydation est due à la présence dans le sérum de petites quantités d'acides d'alpha cétonique ou alpha gamma dicétoniques dont la lactico déhydrogénase en présence de DPNH catalyse la réduction en acide alpha alcool ou alpha gamma dialcool. Cette réduction est entièrement terminée au bout de 20 minutes

Après l'électrophorèse et élution on retrouve 60 à 90 % de l'activité totale de l'enzyme selon qu'on emploie plus ou moins d'éluant.

Le résultat de ce fractionnement par électrophorèse est remarquable et quelque peu inattendu : l'activité de la Lactico Déhydrogénase se manifeste en trois pics distincts et non pas en un seul.

Un pic se trouve dans la zone des beta globulines, un deuxième dans la zone des alpha 2 globulines, le troisième se trouve entre le zone des α_1 globulines et celle des albumines.

Cette répartition en trois pics distincts se retrouve chez tous les sérums normaux ou pathologiques (infarctus ou leucoses).

Les hématies étant riches en Lactico Dehydrogénase il faut éviter une hémolyse excessive qui fausserait tous les résultats.

Dans le tableau ci-dessous sont reportés les résultats relatifs à 6 sérums normaux, deux infarctus dont un fatal, trois leucoses dont deux aleucémiques.

Pourcentage d'activité dans les différentes fractions

	Activité totale	Alpha 1	Alpha 2	Beta	Rapport $\frac{\text{alpha 2}}{\text{alpha 1}}$
Témoins (6)	284	34%	47%	19%	1,5
val.moyen.					
Infarctus	626	52	38	10	0,7
Infarctus (fatal)	1892	61	35	4	0,6
Leucose leucémique	500	25	57	18	2,4
Leucose aleucémique	180	30	57	13	1,9
Leucose aleucémique	198	28	55	17	2

Pour les témoins on a indiqué des valeurs moyennes, les activités totales allant de 193 à 370, les pourcentages allant de 31 à 37 % pour alpha 1, de 43 à 55 % pour alpha 2, de 12 à 23 % pour bêta, et les rapports alpha 2/ alpha 1 allant de 1,3 à 1,6.

Les deux sérums d'infarctus ont un taux global, de lactico Dehydrogénase très augmenté, l'augmentation paraissant liée à l'étendue des lésions puisque le sérum d'infarctus à issue fatale à une activité triple de celui de l'autre.

La répartition de l'enzyme dans les trois pics est modifiée par rapport aux témoins .

La proportion est maximale dans la fraction alpha 1, alors que chez les témoins le maximum est dans la fraction alpha 2 et le rapport alpha 2/ alpha 1 est inversé (0,7 et 0,6 au lieu de 1,5 pour les témoins).

Dans les trois sérums de leucose étudiés, on n'observe d'augmentation globale d'activité que pour la forme leucémique (33.000 leucocytes / mm³) elle est d'ailleurs inférieure à celle des sérums d'infarctus (500 contre 686 et 1892). Les sérums des deux formes aleucémiques ont par contre une activité légèrement inférieure à celle des sérums témoins (180 à 198 contre 284 (valeur moyenne)).

Mais dans les trois cas les répartitions sont très voisines, avec 55 à 57 % d'activité dans les pics alpha 2 et 25 à 30 % dans les pics alpha 1 et le rapport alpha 2/alpha 1, est élevé par rapport aux témoins (19 2,24 contre 1,5). Le rapport le plus élevé 2,4 étant celui de la forme leucémique.

Un autre travail a été effectué par électrophorèse sur papier en continu sur des sérums de malades leucémiques.

Technique : Les sérums sont dilués au 1/10 dialysés contre un tampon véronal (pH 8,6 force ionique 0,02) pendant une nuit à température de 4° - Intensité du courant 30 mA. Voltage 450 volts.

A la fin de l'opération la feuille est séchée et colorée pour référer les fractions protéiques, et l'activité de la lactico Dehydrogénase est mesurée dans chaque tube par spectrophotométrie.

Les travaux ont été fait sur des sérums normaux. On trouve là aussi une répartition en trois zones. Une au niveau de alpha 1 globuline une au niveau des alpha 2 une au niveau des bêta globulines.

Les proportions sont voisines de celles observées par

electrophorèse sur amidon. 28 % pour la fraction alpha 1, 51,5 pour la fraction alpha 2. 21 % pour la fraction bêta et le rapport alpha 2/ alpha 1 = 1,8.

A ces travaux on doit ajouter les travaux récents de Wieme qui a recherché l'emplacement de la lactico Dehydrogénase par sa méthode très originale de l'enzymo électrophorèse.

Technique : le support est un gel de gélose de 1 g pour 100 ml de tampon véronal (pH 8,5 et force ionique 0,1) étendue en couche de 1,5 mm sur une lamelle porte objet. Le voltage aux électrodes est de 140 volts, l'intensité de courant 25 milliampères. L'opération dure 20 minutes.

Une fois celle-ci terminée on applique sur la plaque une deuxième plaque de gélose d'épaisseur identique faite avec le même tampon mais contenant du pyruvate de sodium (0,3 mg/ml) et du DPNH (0,5 mg/ml). On repère au spectro(photomètre à 340 m μ) les zones d'apparition de DPN oxydé donc d'activité enzymatique, avant de colorer les protéines à l'amido Schwartz.

L'auteur arrive, avec ce procédé, aux résultats suivants : L'activité enzymatique est trouvée en quatre zones différentes.

Une première entre l'albumine et les alpha 1 globuline

Une seconde entre les alpha 1 et alpha 2 globulines

Une troisième au niveau des bêta globulines

Une quatrième au niveau des gamma globulines.

On observe donc là encore cette surprenante répartition de l'enzyme en plusieurs groupes, ici 4 même au lieu de 3 comme dans les observations sur plaque d'amidon.

Ceci amène à poser la question : S'agit-il de plusieurs protéines distinctes à même propriété enzymatique mais de charges électrique et de migration différentes, on ne s'agit-il que d'une même protéine pouvant se combiner avec différentes fractions du sérum ?

Les enzymes sériques étant d'origine tissulaire, Wieme a recherché la répartition de la lactico déhydrogénase au niveau des tissus, par la méthode d'enzymo électrophorèse directe de microfragments de tissus.

Il observe encore d'avantage de zones d'activité, quatre aux mêmes emplacements que dans le sérum et une cinquième très lente en arrière des gamma globulines. Cette multiplication des fractions actives rend assez peu vraisemblable l'hypothèse d'enzymes distincts et suggère l'idée de la combinaison d'un enzyme avec les différentes fractions sériques.

C'est dans une autre direction que Sayre Borrough et Hill ont étudié le problème de l'unicité ou de la multiplicité des lactico Dehydrogénases.

Ces auteurs ont en effet fractionné le sérum par chromatographie. Les protéines précipitées dans une solution de sulfate d'ammonium saturé, sont remises, en suspension dans une solution de sulfate d'ammonium et appliquées sur une colonne de cellulose, puis sont éluées par des concentrations décroissantes de sulfate d'ammonium. Les éluats sont collectés dans 60 tubes. On trouve deux zones distinctes d'activité Lactico Dehydrogénase une au 22e tube, une plus intense au 38°. Ces deux fractions mélangées, précipitées et chromatographiées de nouveau dans les mêmes conditions et avec la même quantité d'éluant, redonnent 2 pics d'activité enzymatique, aux mêmes endroits, mais cette fois la fraction rapide du 22e tube est beaucoup plus importante. Une nouvelle opération identique à la précédente ne donne qu'un pic d'activité enzymatique correspondant à la fraction du 22e tube.

D'autre part, cette fraction résultant de la troisième opération, mise en contact avec du sérum donne par une nouvelle séparation, une répartition en une seule zone mais très étalée de part et d'autre du 22e tube.

Tous ces faits suggèrent fortement l'existence de combinaisons réversibles entre l'enzyme et les protéines sériques.

Ces mêmes auteurs se sont demandés si ces combinaisons enzymes globulines ne se faisaient pas par l'intervention de liaisons disulfures. En effet la Lactico Dehydrogénase présente des groupes thiols. Poussant plus loin leurs investigations ces auteurs ont traité des sérums par du glutathion réduit (10^{-4} M), et les ont chromatographiés toujours dans les mêmes conditions. Ils ont obtenu ce résultat très intéressant.

Dès le premier passage la totalité de l'activité enzymatique est trouvée dans le 22e tube. L'existence de liaisons disulfures et leur rupture par le glutathion réduit semble donc probable.

Par contre, ce même sérum humain traité par glutathion et soumis à l'ectrophorèse sur gel d'amidon, donne toujours une répartition inchangée en 3 pics à la différence de sérums animaux (lapins) qui eux ne donnent plus qu'un seul pic.

Toutes ces données : multiplicité des fractions enzymatiques, leur différences en nombre selon les techniques

électrophorétiques, la variation des proportions et surtout le rôle si frappant du glutathion rendent donc très probable l'hypothèse d'un seul enzyme combiné réversiblement et en proportion différente selon les conditions expérimentales avec les globulines sériques.

CHOLINE ESTERASE ET LIPASE

Un enzyme sérique très étudié a été la pseudo choline estérase ainsi nommée pour la différencier de la choline estérase vraie qu'on trouve dans les hématies mais qui n'existe pas dans le sérum. Alors que la choline estérase vraie catalyse spécifiquement l'hydrolyse de l'acétyl choline et, avec une vitesse beaucoup moindre d'ailleurs, celle de la propionyl choline mais n'a plus d'activité sur les esters de choline et d'acides à chaînes plus longues, la pseudocholine **estérase**^a une activité qui augmente avec la longueur de l'acide gras, de l'ester de choline.

La pseudo choline esterase par ailleurs est moins spécifique et peut hydrolyser (plus lentement), les esters d'autres alcools que la choline. Ces deux enzymes subissent une inhibition non compétitive par le Diisopropyl - fluorophosphate (D.F.P.) qui forme avec les enzymes une combinaison.

La pseudo choline estérase sérique a fait l'objet de plusieurs travaux concernant sa répartition dans les diverses fractions après l'électrophorèse de différents types : sur papier, sur papier en continu, sur gel d'ami-don.

Sur papier Grégoire et Derrien emploient la technique suivante : Papier Whatman II Tampon Véronal (12 g/1000 ml) pH 9. Voltage 250 V. Intensité 3 milli ampères. Durée de l'opération 7 heures. La bande séchée est découpée longitudinalement en 2. Sur une moitié on révèle les différents fractions protéiques au Bleu de Bronophénol. Sur l'autre moitié l'activité de la choliné esterase par le procédé suivant : On observe la zone de décoloration du rouge de phénol par l'acide acétique libéré par l'hydrolyse enzymatique de l'acétyl choline. Pour cela les auteurs découpent transversalement le papier en bandes de 1 Cm de large. Chaque bande est éluée dans 2 Cm,5 d'eau à laquelle on ajoute 0,4 ml de solution de rouge de phénol (pH 7,5 puis 0,4 ml d'acétyl choline (1 Mg/ml). Là où se trouve la choline estérase on observera une décoloration.

Grégoire et Derrien trouvent la décoloration dans les fractions correspondant aux régions alpha 2, intervalle

alpha 2 b ta, et beta.

Un travail assez similaire est rapport  par Vincent et Segonzac qui procèdent également par électrophorèse sur papier dans des conditions expérimentales très voisines. Mais ces auteurs n luent pas et révèlent en humectant la feuille d'un mélange de rouge de crésol et d'acétyl choline légèrement alcalinisé jusqu'à obtenir une teinte violette. Au bout de 20 ou 30 minutes, la zone où se trouve la choline estérase vire au jaune.

Ces auteurs trouvent aussi un virage dans la partie allant de alpha 2 à beta.

Opérant toujours par électrophorèse sur papier dans les mêmes conditions Baker et Pellegrino révèlent la présence de pseudocholine estérase en pulvérisant non plus de l'acétylcholine mais du perchlorate de butyryl choline (la pseudocholine estérase hydrolysant les esters d'acide butyrique et de choline plus rapidement que l'acétyl choline).

Eux aussi trouvent un résultat identique : la bande de décoloration va de alpha 2   b ta. Ils ont confirmé ces résultats par des mesures quantitatives : le papier humecté de perchlorate de butyryl choline, incubé pendant 20 minutes est découpé en bandes correspondant à chaque fraction

protéique. Chaque bande est placée dans un tampon bicarbonate et on mesure manométriquement le CO₂ dégagé (déplacé par l'acide butyrique libéré) en microlitres, par ml de sérum. On a le tableau suivant :

	Fraction	Volume dégagé en microl. par ml. du sérum		
Pour trois sérums différents	A + Alpha 1	4	1,5	2,8
	Alpha + Beta	73	71	31
	Gamma	2	1,5	1,5

On voit donc que pour les trois sérums au moins 90% de l'activité (92 % pour le premier, 96 pour le second, 90 % pour le troisième) se retrouvent dans la région alpha 2 plus bêta.

D'autres auteurs Vincent et Segonzac ont étudié la migration de la pseudocholine estérase par électrophorèse sur papier vertical avec séparation continue, l'opération durant 24 heures. La feuille est ensuite colorée au bleu de bromophénol. On localise l'enzyme dans les fractions collectées en utilisant la technique décrite par Hestrin. L'acétyl choline traitée par l'hydroxylamine en milieu alaalin donne stoechiométriquement de l'acide hydroxamique, laquelle traitée par Fe Cl 3 donne une coloration pourpre qu'on peut lire à 540 millimicrons.

Technique :

On ajoute à 1 ml de solution à analyser, 2 ml d'un mélange à partie égale d'hydroxylamine 2 M et de NaOH 3,5 N. On acidifie par HCl concentré jusqu'à pH 1,2. On termine en ajoutant 1 ml. de solution de chlorure ferrique 0,37 M dans Hcl 0,1 N.

Résultats :

On observe une coloration rouge dans les tubes sauf dans ceux correspondant aux fractions alpha 2, intervalle alpha 2 - beta et beta rapide.

Une autre technique d'étude a été employée par Lowry Rosebrough et Farr, l'électrophorèse sur colonne d'amidon selon la technique de Flodin et Porath. La colonne imprégnée de tampon véronal 0,1 M pH 8,9 est refroidie par une circulation d'eau glacée. Chaque expérience est faite avec 2 ml de sérum dialysé au préalable une heure contre le tampon Voltage 600 v. Intensité 20 mA. Durée 30 à 40 heures. L'élution se fait par le même tampon. La concentration protéique de chaque fraction est estimée photométriquement à 750 millimicrons après coloration au bleu de bromophénol et l'activité choline estérasique manométriquement comme dans les travaux de Baker et Pellegrino. Une fois de plus on retrouve l'activité enzymatique dans la région alpha 2, intervalle alpha 2 - beta et beta.

On voit donc d'après tous ces travaux concordants que les électrophorèses donnent de la pseudo choline estérase une répartition très étalée de alpha à béta.

Lowry Rosebrough et Farr ont essayé de préciser d'avantage la position de l'enzyme en le marquant par un composé radioactif. Ils utilisent la propriété du Di isopropyl fluorophosphate (D.F.P.) de former une combinaison stable avec la pseudo choline estérase (ainsi qu'avec la choline estérase proprement dite d'ailleurs). Pour ce on traite 2,5 ml de sérum par 0,25 ml de solution de D.F.P. marqué où le phosphore est du phosphore 32 radioactif (5.10^{-6} N) pendant 40 minutes.

Les essais d'électrophorèse sur papier avec révélation de radioactivité par plaque photographique mise au contact, n'ont montré aucun noircissement même après un contact prologé de plusieurs semaines; la quantité de phosphore radioactif devant être trop faible. Par contre après électrophorèse sur colonne d'amidon selon la technique précédemment décrite, on obtient après élution et mesure d'activité spécifique au compteur geiger des résultats positifs. Après une courte dialyse du sérum traité contre le tampon, on observe deux pics d'activité spécifique : le premier juste après le pic de l'albumine le second entre les globulines alpha 2 et beta.

Après une dialyse de 24 heures contre le tampon, on n'observe qu'un seul pic situé entre alpha 2 et beta. Le pic au niveau de l'albumine a disparu. Dans les deux cas le sérum traité n'avait plus aucune activité enzymatique mesurable manométriquement.

On doit en conclure que le D.F.P. forme une combinaison réversible avec l'albumine, irréversible avec la pseudo choline estérase qu'elle inhibe complètement et que cet enzyme migre dans l'intervalle alpha 2 beta.

En raison de l'inhibition complète de l'activité cholinestérasique du sérum on peut éliminer la combinaison du D.F.P. avec une autre protéine.

Des activités spécifiques dans l'intervalle alpha 2 beta ont également été observés pour des sérums de sujets ayant reçu trois jours auparavant une injection d'huile contenant du D.F.P. radioactif sans présence du pic rapide au niveau de l'albumine.

Le sérum de ces sujets présentait une baisse marquée de l'activité cholinestérasique.

Au point de vue pathologique on connaît la fréquence des augmentations, de l'activité cholinestérasique sérique dans les cas de néphrose lipoïdique. Delcourt signale une

corrélation intéressante entre l'augmentation d'activité cholinestérasique et l'augmentation du taux de floculation dans le test de Kunkel et que l'on retrouve également dans les néphroses lipoïdiques. Y aurait-il variation d'un facteur commun ? Il ne semble pas. L'intensité de la floculation dans la réaction de Kunkel dépend des beta lipidoprotéines. Or la délipidation du sérum (Vincent Legonzac Polonowski) n'altère pas les propriétés cholinestérasiques du sérum.

Il ne semble donc pas qu'il y ait variation d'un facteur directement commun mais évolution parallèle de deux facteurs. Ce qui est frappant dans la néphrose lipoïdique où l'électrophorèse montre une augmentation considérable des globulines alpha 2 et à un degré moindre des beta globulines. Il n'y a donc rien d'étonnant d'observer une élévation du taux de cholinestérase qui est une protéine migrant dans cette zone alpha beta, particulièrement augmentée et l'augmentation des chiffres du test de Kunkel qui traduit l'élévation du taux des beta lipidoprotéines que l'on trouve également dans la même zone.

On a décrit dans le sérum une lipase hydrolysant les triesters de glycérol libre (à la différence du "clearing factor" du plasma qui n'hydrolyse les triplycérides que s'ils sont combinés avec les lipoprotéines alpha 1);

Baker et Pellegrino ont recherché par électrophorèse sur papier à déterminer la mobilité de cette lipase.

Technique :

Papier Whatman 3 M.M. Tampon barbital de force ionique 0,03, de pH 8,6 - Voltage entre 100 et 150 v. intensité 2 mA. L'opération dure 16 heures. Les bandes sont ensuite découpées longitudinalement. Sur l'une on repère par d'amido Schwartz les fractions protéiques. Sur l'autre on repère l'emplacement de la lipase par la réaction colorée spécifique suivante.

On pulvérise comme substrat du tributyrate de glycérol. On incube à la chambre humide à 37 degrés pendant une heure. On pulvérise ensuite une solution aqueuse de rouge de crésol. La présence d'acide butyrique libéré par la lipase est révélée par une zone jaune sur fond rouge.

Sur vingt sérums étudiés la zone jaune a toujours été observée dans l'intervalle entre les alpha 2 globulines et les beta globulines. Cette position a été confirmée par des mesures quantitatives. La bande est découpée transversalement en trois parties correspondant à albumine et fraction alpha 1, alpha 2 et beta, gamma. L'activité dans les éluats correspondants est mesurée manométriquement en

volume de CO₂ déplacé d'un tampon bicarbonate par l'acide butyrique libéré.

On a les résultats suivants pour trois sérums

Fractions	Microlitres de CO ₂ par 0,1 ml d'éluat et par heure		
A + alpha 1	0	9	12
Alpha 2 + beta	218	188	85
Gamma	7	18	15

pour le premier sérum 96 % de l'activité est retrouvée dans la zone alpha 2 et beta

pour le second sérum 90 %, pour le troisième 77 %

Ces résultats qualitatifs et quantitatifs montrent que la mobilité de la lipase sérique qui migre dans l'intervalle alpha 2 beta est la même que celle de la pseudo cholinestérase. Cette identité de mobilité amène à poser cette question. Cette lipase n'est-elle pas tout simplement la pseudo-cholinestérase. En effet ce dernier enzyme n'est pas très spécifique et peut hydrolyser des esters autre que ceux de choline, en particulier, des esters du glycérol. Ce problème de l'existence ou non d'une lipase sérique distincte de la pseudocholinestérase n'a pas encore été résolu.

LES PHOSPHATASES

Un groupe d'enzymes sériques particulièrement étudié a été celui des phosphatases, en raison surtout de l'intérêt du dosage des phosphatases acides dans les cas de cancer de la prostate. Aussi n'a-t-on pas manqué d'étudier la migration électrophorétique de ces enzymes.

Les phosphatases sont des estérases qui hydrolysent des monoesters d'acide phosphorique du type $R - O - PO_3H_2$ où l'acide phosphorique conserve deux fonctions acides libres ou salifiées. On distingue les phosphatases alcalines ainsi nommées parce qu'elles ont leur pH optimum à 9 et les phosphatases acides qui ont leur pH optimum à 5. Les phosphatases acides sont d'origine surtout prostatique, et leur taux sérique est très augmenté dans les cancers de la prostate, avec métastases osseuses. Les phosphatases alcalines se trouvent elles augmentées précocement dans les cas de rachitisme, dans la maladie de Paget, dans les ictères par rétention.

La phosphatase acide n'a pas jusqu'à présent été localisée par électrophorèse par contre on a obtenu des résultats positifs dans l'étude de la migration des phosphatases alcalines au cours d'électrophorèses sur papier et sur amidon. Baker et Pellegrino ont employé la même technique d'électrophorèse sur papier que pour leur travail sur la lipase sérique

papier Whatman 3 M II tampon barbital de force ionique 0,03 et de pH 8,6. Différence de potentiel 150 volts intensité 2 milliampères, l'opération durant 16 heures. L'activité phosphatasique alcaline est révélée par le procédé histochemique de Manheim et Seligman. On pulvérise sur la bande de papier une solution à 2 % d'ester phosphorique d'alpha naphthol dans un tampon alcalin de pH 9,2. On incube à 37 degrés pendant 20 minutes.

L'alpha naphthol libéré par hydrolyse enzymatique est mis en évidence par la pulvérisation d'une solution de dianizidine diazotée qui donne une bande pourpre s'il y a présence d'alpha naphthol libre.

Avec un sérum normal la zone colorée, après incubation de deux heures est faible quoique nettement visible. Cette zone coïncide avec la région des alpha 2 globulines. Dans les sérums pathologiques avec hyperphosphatasémie, les bandes pourpre sombre apparaissent après une incubation plus courte (trente minutes) mais toujours dans la région des alpha 2 globulines. Ces mêmes auteurs ont fait des mesures quantitatives en découpant les bandes de papier en parties correspondant aux différentes fractions protéiques. Ces parties incubées pendant deux heures avec de l'ester phosphorique d'alpha naphthol à 0,2 % sont éluées dans un tampon

carbonate bicarbonate de pH 9,2 et de force ionique 0,1. Les protéines sont déféquées ^à l'acide trichloracétique et centrifugées. Ausurnageat on ajoute une solution de dianizidine diazotée. La couleur est lue au photomètre au filtre vert.

On peut ainsi en comparant avec une gamme de solutions d'alpha naphthol doser l'alpha naphthol libéré. On obtient pour trois sérums les chiffres suivants

	Microgrammes d'alpha naphthol libéré par ml de sérum et par heure		
A + Alpha 1	5,3	6,3	7,9
Alpha 2	11	53	21
Beta	6,1	14,7	10,5
Gamma	5,3	11,6	3,2

On trouve les maximum d'activité dans la région des alpha 2 globulines, mais une partie notable de l'activité est retrouvée dans les autres régions puisque pour le premier sérum on ne trouve que 40 % de l'activité totale dans la région alpha 2, 62 % pour le second, et 50 % pour le troisième.

La phosphatase alcaline a été également étudiée par électrophorèse sur plaque d'amidon par Rosenberg qui emploie un tampon barbital de force ionique 0,1 et de pH 8,6.

La plaque est refroidie à cinq degrés pendant la durée de l'opération qui est de 48 heures. Les plaques d'amidon sont ensuite découpées transversalement en sections de cinq mm et éluées dans l'eau. On détermine l'activité phosphatase par mesure de l'hydrolyse de paranitrophenyl phosphate en milieu tampon à pH 10,3.

Cet auteur a étudié sept cas de maladie de Paget où l'activité enzymatique était très élevée. Il trouve 95 % de l'activité dans la bande des alpha 2 globulines et moins de 5 % dans la bande alpha 1.

Dans treize cas d'ictères par rétention, deux pics avec 75 à 90 % d'activité en alpha 2 et 6 à 20 % d'activité en alpha 1.

Dans deux cas de cirrhose biliaire toute l'activité est répartie dans une large bande au niveau des beta globulines et non plus des alpha 2. Dans quatre cas normaux, il trouve la presque totalité de l'activité concentrée dans la région alpha 2.

Ces chiffres montrent des répartitions beaucoup plus précises que les chiffres obtenus par Baker et Pellegrino.

L' A M Y L A S E

Dernier enzyme dont on a pu déterminer la position dans la répartition électrophorétique des fractions sériques l'amylase. Cet enzyme sérique est d'origine pancréatique pour la plus grande part et son taux est très augmenté dans les pancréatites hémorragiques.

Ce sont Baker et Pellegrino qui ont aussi étudié l'amylase par électrophorèse sur papier toujours avec la même technique papier Whatman 3 MM, tampon barbital à pH 8,6 150 volts et deux milliampères, et une durée d'opération de seize heures.

La feuille de papier est incubée à vingt degrés pendant quinze heures dans un gel contenant 1 gramme d'amidon et 2 grammes d'agar pour 100 ml d'eau et 30 ml de tampon phosphate 0,1 M (à pH 7,2). La feuille est après révélée en la trempant dans une solution aqueuse d'iode.

La zone d'activité amylasique se traduit par une zone blanche sur fond bleu. Or cette zone blanche apparaît toujours en arrière de la portion la plus lente des gamma globulines, en un point où la concentration protéique est trop faible pour être révélée par le bleu de bromophénol.

Ce résultat est confirmé par des mesures quantitatives. Les bandes de papier correspondant à diverses fractions protéiques sont incubées à 40° pendant une heure dans une solution d'amidon à 1,5 % à pH 7,2, les protéines ensuite précipitées par quatre ml d'une solution à partie égale de sulfate de cuivre à 5 % et de tungstate de sodium à 7%. On dose dans le surnageat les sucres réducteurs par la méthode de Haslewood et Strockman. On obtient les résultats suivants, pour quatre sérums :

Fraction	Microgrammes de sucre réducteur par 0,1 ml de sérum et par heure			
A + Alpha 1	17	43	25	25
Alpha 2 + beta	18	14	17	0
Gamma rapide	9	0	0	90
Gamma lent	93	190	150	310

Donc le plus fort pourcentage d'activité pour le premier sérum, pour le second, pour le troisième et pour le quatrième sont retrouvés dans la partie la plus lente des gamma globulines.

Ces auteurs ont pu étudier un cas d'agamma globulinémie. Ils ont trouvé une activité amylasique faible mais perceptible de migration très lente et située par comparaison

avec un sérum normal en arrière des gamma globulines. Il semble qu'il s'agisse bien là de la migration propre de l'enzyme et non de la migration d'un complexe enzyme globuline comme dans le cas de la lacticodéhydrogénase.

CONCLUSIONS

$\frac{1}{2}$ $\frac{1}{3}$ $\frac{1}{4}$ $\frac{1}{5}$ $\frac{1}{6}$ $\frac{1}{7}$ $\frac{1}{8}$ $\frac{1}{9}$ $\frac{1}{10}$ $\frac{1}{11}$ $\frac{1}{12}$

Les travaux qui ont donné des résultats positifs et amené à des conclusions intéressantes portent essentiellement sur sept enzymes, la coeruléoplasmine qui est aussi une oxydase, la transaminase glutamique oxalacétique, la lactico déhydrogénase, la pseudo choline estérase, la lipase, la phosphatase alcaline et l'amylase sérique.

Tous ces travaux sont très peu homogènes. En effet les techniques varient considérablement. On a employé la gélose et l'immuno électrophorèse pour la coeruléoplasmine, les plaques de gel d'amidon et le papier pour la transaminase glutamique oxalacétique et la phosphatase alcaline la plaque de gel d'amidon, le papier en continu et la microélectrophorèse pour la lactico déhydrogénase, le papier en continu et discontinu et la colonne de gel d'ami pour la pseudocholine estérase, le papier seul pour la lipase et l'amylase.

On pourrait craindre que des techniques si diverses entraînent des résultats non comparables. En fait dans les cas où différentes techniques ont été employées pour le même enzyme les résultats se sont avérés concordants.

Ainsi pour la transaminase glutamique oxalacétique

et pour la phosphatase alcaline également, papier et gel d'amidon montrent la même migration dans la région alpha 2. De même pour la lactico dehydrogénase plaque d'amidon et papier révèlent la même répartition en trois pics alpha 1, rapide, alpha 2 et beta. Enfin papier et colonne d'amidon donnent pour la pseudo choline estérase la même migration dans l'intervalle alpha 2 beta. On peut donc admettre que les différents supports donnent pour le même enzyme des migrations dans la même zone.

Les renseignements apportés par ces études sont variés.

Dans l'ensemble ils apportent peu de précisions supplémentaires aux diagnostics.

Ainsi la transaminase glutamique oxalacétique dont l'élévation du taux est de règle dans les poussées de myopathie de Duchenne Erb a été étudiée par électrophorèse sérique chez des malades et des témoins. Alors que les différences quantitatives sont fortes : taux 3 à 6 fois plus élevé chez les malades que chez les témoins, les résultats de l'électrophorèse sont très voisins : chez malades et témoins les maximums de migration enzymatique sont retrouvés dans la région alpha 2.

Une seule différence assez faible peut être notée : alors que chez tous les témoins la proportion d'enzyme dans la fraction alpha 2 dépasse 90 %, chez certains malades, ceux qui ont justement les taux les plus élevés, la répartition est plus étalée de part et d'autre de la bande alpha 2 où la proportion peut tomber à 60 %. Mais cette différence n'est pas constante. Aussi sa mesure n'a pu être utilisée dans un but diagnostique et ajoute peu de renseignements au dosage quantitatif.

Il en est de même pour l'étude de la phosphatase alcaline dont le taux est fortement élevé dans les cas de maladie de Pajet et dans les cas d'ictères par rétention. On observe chez les témoins presque toute l'activité dans la région alpha 2. Pour les maladies de Pajet la presque totalité est également retrouvée dans la bande alpha 2. Pour les ictères on observe une légère dissociation : 6 à 20 % de l'activité est retrouvée dans la bande alpha 1.

Il n'y a donc rien de bien caractéristique au point de vue qualitatif par rapport à la normale. La seule différence nette provient de deux cas de cirrhose biliaire où la phosphatase n'est retrouvée que dans la région des beta globulines au lieu des alpha 2.

Le renseignement peut être intéressant mais le nombre de cas étudiés jusqu'à présent : deux seulement, est trop faible pour qu'on puisse conclure définitivement.

Par contre, l'étude de la lactico déhydrogénase apporte des renseignements beaucoup plus importants. Cet enzyme voit son taux augmenter dans les cas d'infarctus du myocarde (3 à 6 fois plus que chez les témoins). et dans les leucoses leucémiques; ce taux est par contre normal dans les leucoses aleucémiques.

La lactico déhydrogénase se répartit en trois zones correspondant aux "fractions" alpha 1 globuline, alpha 2 et beta globulines. Dans les trois lots de sérums (infarctus, leucoses, témoins). Les zones alpha 1 et alpha 2 groupent de 80 à 95 % de l'activité, mais la répartition dans ces deux zones est très différentes selon le lot.

Chez les témoins, le taux est plus élevé dans la zone alpha 2 que dans alpha 1 et le rapport taux alpha 2/ taux alpha 1 est égal à 1,5.

Dans l'infarctus c'est l'inverse, le taux est plus élevé dans la zone alpha 1, et le rapport est compris entre 0,6 et 0,7. Enfin dans les leucoses le rapport est supérieur à 1,5 (de 1,8 à 2,4).

Cette élévation du rapport s'observe aussi bien dans les formes aleucémiques où le taux global d'enzyme est normal que dans les formes leucémiques où ce taux est élevé. On disposera donc là si ces résultats sont confirmés d'un signe nouveau qui permettra de suspecter une leucose ou de confirmer un diagnostic de fonction sternale.

Cette notion de répartition en trois fractions, quatre même par la méthode de l'enzymo électrophorèse où l'on trouve en plus une légère activité enzymatique au niveau des gamma globulines a conduit à un certain nombre de travaux pour expliquer ce phénomène.

De leur ensemble on peut retenir l'explication la plus vraisemblable : cet enzyme forme avec les différentes globulines des combinaisons réversibles par des ponts disulfure. Ce mécanisme s'applique-t-il aux autres enzymes qui migrent avec une certaine dispersion de part et d'autre d'une zone ?

On n'a rien pu prouver chez les autres enzymes. On a même un phénomène opposé avec l'amylase qui migre très lentement, en arrière des gamma globulines en une région où l'on ne peut mettre en évidence de protéines, et que l'on retrouve au même emplacement dans les sérums de sujets

agamma globulinémiques.

On a donc là l'exemple opposé d'un enzyme dont la vitesse de migration semble indépendante de toute combinaison avec une globuline sérique.

Enfin, renseignements d'un autre ordre, d'autres travaux ont donné des arguments supplémentaires en faveur de l'hypothèse de l'identité entre la lipase sérique et la pseudo choline estérase. En effet ces deux enzymes ont des vitesses de migration identiques, on les retrouve tous deux dans l'intervalle alpha 2 beta. Connaissant la faible spécificité de la pseudo choline stérase sérique on a des raisons supplémentaires d'admettre que l'activité lipasique du sérum est due à la pseudocholine stérase.

Vu, le Président de Thèse

Professeur SCHAPIRA

Vu, le Doyen de la Faculté

Professeur L.BINET

Vu et permis d'imprimer,

Le Recteur de l'Académie de Paris :

J. SARRAILH.

BIBLIOGRAPHIE

- R.AUDUBERT, S. De MENDE - Principes de l'électrophorèse P.U.F
- KUNKEL - Methods of Biochemical Analysis
New York Interscience 1954 T1.
- MAC CLENDON SOMERS - Plant. Physiol. 1955 T.30.
- ROSA, SADDI, SCHAPIRA - Migration électrophorétique de la
transaminase glutamique oxalacétique chez le suiet
normal et le myopithe - C.R. Soc. Biol.
Séance 8.II.58.
- DREYFUS SCHAPIRA C.R. Soc. Biol. 1955 T. 149 p.1934
- S. REITMAN. S. FRANKEL Amer. Journ. Clin. Pathol.1927.T.28
N°1
- ELLIOT, S. VESELL, A.G. BEARN - Localization of Lactic.
Acid Dehydrogenase activity in Serum Fraction
Proceeding of.Soc.for Experimental Biology and
Médecine 1957 V 94. p. 96.99
- HILL LEVY - Cancer Research 1954 V 14. 513.
- FRANCIS W.SAYRE, BORROUGH HILL - Fractionation of Serum
Lactic. Dehydrogenase activity by Salt Concen-
tration Gradient Elution and paper Electrophoresis.
Proceed. of Soc. for Exp. Biol.and Med. 1957 vol.96
695.697
- GREGOIRE et DERRIEN - C.R. Soc. Biol. 1952 T 146
p.1491
- EISFELD KOCH - Zentral Blatt f. Inn.Med.
1954 T.9.514

R.W.R. BAKER & PELLEGRINO - Scand Journ. Clinic.
Laboratory Investigation 1954 T 6.94.

VINCENT SEGONZAC - Cholinestérase sérique et R. Phenol.
Kunkel. Revue Française Et.Clin.& Biol.1958 III
163 166

COHEN WARRINGA - Labelling of Human Serum by 32 P.D I P P F
Bioch.Bioph.Acta 1957-25-600.

ROSENBERG - Zone electrophoretic Studies of Serum Alkaline
phosphatase activity.
J. Clin. Invest. 1957. 36. 924.



AGEMP
POLYCOPIE

8, rue Dante

PARIS-V^e

Téléphone : ODÉon 58-90